Olsztyn, 21.06.2023 r.

Prof. dr hab. Jarosław Całka
Katedra Fizjologii Klinicznej
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
UWM w Olsztynie

Opinia o pracy doktorskiej lek. wet. Marty Brzozowskiej
pt. „Wpływ stanu zapalnego wywołanego podawaniem kwasu acetylosalicylowego, naproksenu i indometacyny na kodowanie chemiczne neuronów jelitowego układu nerwowego dwunastnicy świni domowej"

Pracę doktorską lek. wet. Marty Brzozowskiej stanowi cykl trzech artykułów oryginalnych opublikowanych w czasopismach *Annals of Anatomy* o IF wynoszącym 2,241 i liczbie punktów MEiN równej 100, *Frontiers in Pharmacology* o IF wynoszącym 4,225 i liczbie punktów MEiN równej 100 oraz *International Journal of Molecular Sciences* o aktualnym IF wynoszącym 6,208 i liczbie punktów MEiN równej 140:

- **Czajkowska M,** Rychlik A, Całka J. Long-term treatment with naproxen changes the chemical coding of the porcine intramural duodenum neurons. Ann Anat. 2020 Jan;227:151425. doi: 10.1016/j.aanat.2019.151425. (IF=2,698, 100 pkt.)

- **Czajkowska M,** Całka J. Neurochemistry of Enteric Neurons Following Prolonged Indomethacin Administration in the Porcine Duodenum. Front Pharmacol. 2020 Sep 8;11:564457. doi: 10.3389/fphar.2020.564457. (IF=5,811, 100 pkt.)

- **Brzozowska M,** Całka J. Acetylsalicylic Acid Supplementation Affects the Neurochemical Phenotyping of Porcine Duodenal Neurons. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 9871. doi: 10.3390/ijms24129871. (IF=6,208, 140 pkt.)

Lek. wet. Marta Brzozowska odegrała pierwszoplanową rolę w opracowaniu koncepcji badań i ich przeprowadzeniu, jak również analizie, interpretacji wyników i wnioskowaniu.

Doktorantka samodzielnie przygotowała manuskrypty w języku angielskim i po uwzględnieniu uwag współautorów przedłożyła do oceny w czasopismach, a następnie dokonała korekty w odpowiedzi na recenzje. Udział lek. wet. Marty Brzozowskiej we wszystkich trzech pracach wynosi 60%.

Głównym celem badań doktorantki było poznanie wpływu stanu zapalnego wywołanego podawaniem indometacyny, naproksenu i kwasu acetylosalicylowego na neurochemiczną charakterystykę neuronów enterycznych dwunastnicy świni domowej.

Materiał badawczy stanowiło 16 niedojrzałych płciowo loszek podzielonych na 4 grupy badawcze, po cztery zwierzęta w każdej. Zwierzęta z grupy kontrolnej otrzymywały przez 28 dni puste kapsułki żelatynowe *per os*. Zwierzętom z grupy N podawano naproksen w dawce 50 mg/kg mc, doustnie. W przypadku grupy INDO, świnie otrzymywały *per os* indometacynę (dawka 10 mg/kg mc), a zwierzętom z grupy ASA podawano kwas acetylosalicylowy doustnie w dawce 100 mg/kg mc. Eksperyment trwał 28 dni. Po tym czasie zwierzęta uśmiercono, a pobrany materiał poddano podwójnym barwieniom immunohistochemicznym, używając jako przeciwciał pierwszorzędowych PGP 9.5 oraz wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP), substancję P (SP), neuronalną izoformę syntetazy tlenku azotu (nNOS), galaninę (GAL), polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową (PACAP) oraz transkrypt regulowany przez kokainę i amfetaminę (CART). W kolejnym etapie eksperymantu, doktorantka analizowała wybarwione preparaty przy użyciu mikroskopu Olympus BX51 wyposażonego w odpowiednie filtry fluorescencyjne.

W ramach przeprowadzonych badań, lek. wet. Marta Brzozowska odnotowała obecność ekspresji wszystkich wybranych neurotransmiterów enterycznych w dwunastnicy świni u zwerząt kontrolnych. Ekspresja VIP, CART, SP, PACAP, GAL i nNOS była widoczna we wszystkich zwojach enterycznego układu nerwowego, tj. w zwojach mięśniowych, podśluzowych zewnętrznych i wewnętrznych. Jest to zgodne z wcześniejszymi obserwacjami uzyskanymi w naszym laboratorium.

Na podstawie analizy wyników otrzymanych od świń z grup badanych, doktorantka uwidoczniła wyraźny wpływ stanu zapalnego wywołanego naproksenem, aspiryną i indometacyną na kodowanie chemiczne nuronów ENS dwunastnicy świni. W grupie ASA oraz INDO, lek. wet. Marta Brzozowska ujawniła statystycznie istotny wzrost ekspresji neuroprzekaźników w neuronach śródściennych dwunastnicy. Odnotowała wzrost neuronów immunoreaktywnych względem CART, PACAP, VIP, SP, GAL i nNOS. U zwierząt otrzymujących naproksen, zauważono dwukierunkowy wpływ polekowego stanu zapalnego na ekspresję wybranych neuroprzekaźników. Doktorantka odkryła, że podawanie naproksenu

wywołuje wzrost ekspresji CART, PACAP, VIP, GAL i nNOS we wszystkich zwojach ENS dwunastnicy. W przypadku substancji P, suplementacja naproksenu wywołała zmniejszenie liczby komórek SP-pozytywnych w neuronach śródściennych.

Wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej lek. wet. Marty Brzozowskiej, dostarczają nowej wiedzy na temat wpływu zapalenia wywołanego suplementacją aspiryny, naproksenu i indometacyny na kodowanie chemiczne neuronów ENS dwunastnicy świni. Neuroprzekaźniki enteryczne są zaangażowane w procesy zapalne toczące się w dwunastnicy. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do rozwoju wiedzy dotyczącej mechanizmu działanie NLPZ oraz wpływu czynników patologicznych na jelitowy układ nerwowy.

W mojej opinii praca doktorska lek. wet. Marty Brzozowskiej jest odpowiednio przygotowana. Opiera się na prawidłowo zaplanowanych i poprawnie przeprowadzonych doświadczeniach, a uzyskane wyniki istotnie rozszerzają aktualny stan wiedzy z zakresu farmakologii, neurologii i gastroenterologii. Należy podkreślić, że praca jest w pełni oryginalna i nie narusza praw osób trzecich.

Jarosław Całka

prof. dr hab. Jarosław Całka